

DISTRIBUCION REGIONAL DE SEROTONINA EN EL SISTEMA NERVIOSO
CENTRAL DE *BOS TAURUS* L.

(THE REGIONAL DISTRIBUTION OF SEROTONIN IN THE CENTRAL NERVOUS
SYSTEM OF *BOS TAURUS*).

por

M.^a PILAR CONTRERAS GORDO*

La identificación y distribución regional de serotonina en el sistema nervioso central ha sido confirmada al desarrollarse los métodos histoquímicos de fluorescencia. La clave de su valoración cuantitativa está en el desarrollo de las técnicas espectrofluorométricas.

En 1935 Twarog y Page, examinando la distribución de serotonina en el cuerpo de ratón y cobaya, la encontraron en grandes cantidades en el cerebro. La serotonina se localiza en porciones cerebrales filogenéticamente más antiguas, siendo Amin y col. (1954) quienes estudiaron su distribución encefálica, encontrando grandes cantidades en mesencéfalo y diencéfalo. Especialmente en el hipotálamo (Bogdanski y col. 1957; Pasquier y Balfagón, 1975). También se hallaron grandes cantidades de serotonina en el sistema límbico (Saavedra y col., 1974), la parte filogenéticamente más antigua del córtex, incluyendo la corteza lateral y media piriforme, corteza entorrinal e hipocampo, en especial en la amígdala, *septum* y triángulo olfatorio. Abunda asimismo en el núcleo caudado, *globus pallidus* y *putamen* (Broch Marsden, 1972). Está prácticamente ausente del cerebelo (Levy, 1959).

Sin embargo, aún no se ha estudiado la distribución regional de serotonina en el cerebro de bovinos. Y consideramos es un paso indispensable su determinación para el estudio del papel que desempeña esta amina biógena en los mecanismos de comportamiento animal a nivel del sistema nervioso central, demostrado por las pruebas convincentes aportadas por las investigaciones de Ellison (1975).

* Departamento de Ciencias fisiológicas. Facultad de veterinaria. Universidad de Córdoba.
Recibido para publicación el 29-2-78.

Material y métodos.

Se han utilizado diez encéfalos de bovinos frisones de una ganadería de Utrera, de veintidós meses de edad, machos, y con un peso medio de 530 kilos; y diez encéfalos de bovinos de lidia, de una ganadería de Jerez, de tres a cuatro años de edad, machos, y con un peso medio de 420 kilos.

La recogida de muestras se llevó a cabo en dos fases paralelas.

a) La primera fase consistió en la obtención de los cerebros de los bovinos frisones sacrificados en matadero.

b) La segunda se llevó a cabo en el desolladero de la plaza de toros, inmediatamente después de terminada la lidia de cada toro.

En ambas fases se prepararon los encéfalos para su transporte, envolviéndolos en papel platina e introduciéndolos de forma inmediata en nitrógeno líquido, a fin de detener el proceso enzimático y evitar la pérdida de serotonina.

Una vez en el laboratorio se introducen en un arcón congelador a -20°C , hasta el momento de la disección. Esta se realizó con bisturí sobre una mesa refrigeradora. Para la localización de las estructuras encefálicas investigadas nos ayudamos del atlas de Yoshikama (1969).

Las áreas estudiadas han sido: *pons* (Po.), corteza del lóbulo piriforme (CLP), *medulla oblongata* (MO.), núcleos amigdalinos (NA.), cuerpo mamilar (CM.), pedúnculos cerebrales (PC.), estría terminal (ET.), corteza del *gyrus pre y posteruciatatus* (CG.) *septum* (S.), cola del núcleo caudado (NCc.), cabeza del núcleo caudado (NC.), *gyrus cingular* (GC.), *tectum* (Tc.), *tegmentum* (Tg.), hipocampo (HP.), hipotálamo (Hp.), tálamo medial (TP.), tálamo lateral (TL.), tálamo caudal (TC.), epitálamo (EP.), núcleo lenticular (NL.) y núcleos del cerebelo (Nc.).

Las piezas de tejido se homogeneizaron en un póster introducido en un baño de hielo, con 10 ml de CIH 0,1N, y la concentración de serotonina se determinó de acuerdo con la técnica fluorimétrica de Udenfriend (1962), con algunas modificaciones que quedan explicadas en el trabajo de Pasquier y Balfagon (1974).

La valoración fue realizada en un espectrofluorómetro de Aminco-Bowman. En condiciones óptimas las longitudes de onda de emisión y absorción son, respectivamente, de 540 y 295 nm.

Por último, con el uso de la ecuación correspondiente a la curva de calibración se transforman las lecturas de las unidades de fluorescencia obtenidas en microgramos de serotonina, que divididos por la cantidad de tejido tomada inicialmente nos dan la concentración de serotonina en microgramos por gramo de tejido.

Se prepararon también blancos de tejidos y patrones internos, para estudiar la recuperación de la amina a lo largo del proceso de extracción, dándonos unos valores del 70 al 90 p. 100.

CONTRERAS: DISTRIBUCION DE LA SEROTONINA EN SISTEMA NERVIOSO DEL TORO.

Todos los reactivos utilizados fueron productos para análisis o para fluorimetría. Tanto ellos como el agua y el material de vidrio se cuidó de su limpieza y pureza, ya que es fundamental para la exactitud de los resultados que se obtengan en los métodos espectrofluorométricos.

Resultados.

El contenido endógeno de serotonina en las diferentes regiones encefálicas de la especie bovina, en general, y de las razas de lidia y frisona, en particular, se muestran en los cuadros I y II.

Estos resultados demuestran que la distribución de serotonina en el sistema nervioso central de los bovinos estudiados no es homogénea.

La mayor concentración de serotonina se encuentra en el cuerpo mamilar (1,0079 $\mu\text{g/g}$), siguiéndole la estría terminal, *tectum* y cola del núcleo caudado, con valores aproximados a 0,9 $\mu\text{g/g}$.

La menor concentración de serotonina en las regiones estudiadas se encuentra en los núcleos del cerebelo, con una cantidad tres veces inferior a la encontrada en el cuerpo mamilar.

Con una concentración aproximada de 0,6 $\mu\text{g/g}$ se encuentran las áreas de los pedúnculos cerebrales, cabeza del núcleo caudado, *gyrus cingular*, tálamo medial y núcleo lenticular.

Entre 0,7 a 0,8 $\mu\text{g/g}$ se sitúan las regiones de los núcleos amigdalinos, *septum*, *tegmentum*, hipocampo, hipotálamo, tálamo lateral y caudal y epitálamo.

A mitad de concentración del cuerpo mamilar están las zonas del puente, corteza del lóbulo piriforme, *medulla oblongata* y corteza del *gyrus pre y postcruciatu*s.

Dentro del núcleo caudado, presenta mayor concentración la región de la cola. En el tálamo, la zona caudal es la de mayor concentración, siguiéndole la lateral y por último, la medial.

Existe gran diferencia entre el área de menor concentración (n. del cerebelo: 0,3960 $\mu\text{g/g}$) y la de mayor concentración (cuerpo mamilar: 1,0079 $\mu\text{g/g}$).

Así mismo encontramos en nuestros resultados que la raza de lidia presenta mayor concentración de serotonina que la raza frisona en todas las regiones estudiadas, excepto la zona del *tectum* y epitálamo.

Discusión.

Un análisis completo requiere ineludiblemente un estudio comparativo de los resultados de la investigación con los de otras investigaciones similares. Sin embargo,

CONTRERAS: DISTRIBUCION DE LA SEROTONINA EN SISTEMA NERVIOSO DEL TORO.

en nuestro caso esto resulta inviable, ya que según la amplia revisión bibliográfica efectuada, nuestra investigación es la primera que trata de determinar en la especie bovina la distribución de serotonina en el sistema nervioso central.

Por ello hemos recurrido para la contrastación de nuestros resultados a unos métodos indirectos, que si no son todo lo precisos que desearíamos, sí pueden al menos ofrecernos un marco de referencia donde insertar los mismos.

En las aportaciones de los resultados relativos se observa que la distribución de serotonina en encéfalos de bovinos está de acuerdo con la distribución de serotonina de neuronas que contienen esta amina, estudiadas extensamente por métodos histoquímicos de fluorescencia en encéfalos de ratas (Fuxe y col., 1969, 1970; y Bjorklund y col., 1971). Por estos métodos se demuestra que los cuerpos celulares serotoninérgicos están localizados en núcleos de la *medulla oblongata* y puente. Las terminales se sitúan en los núcleos amigdalinos y en el hipotálamo. Las vías de unión ascendentes pasan por el *septum* y el *gyrus cingular*.

De todos los trabajos revisados en otras especies, nuestros resultados concuerdan básicamente con ellos y podemos afirmar que la distribución regional de serotonina en el sistema nervioso central de bovinos es muy similar a la de otras especies de mamíferos. Sólo existen pequeñas variaciones debido al método de análisis o de disección seguidos.

La elevada concentración de serotonina encontrada en el cuerpo mamilar y en la estría terminal, en nuestras investigaciones, concuerdan con los trabajos realizados en ratas por Saavedra y col. (1974), quienes estudiaron la distribución de serotonina en el sistema límbico.

La concentración también elevada de serotonina en el hipotálamo, núcleos amigdalinos, *septum* y núcleo caudado, encontradas en nuestras investigaciones, están de acuerdo con los trabajos llevados a cabo, en ratas, por Butterworth y col. (1975); en gatos, por Moore y col. (1965) y Pasquier y Balfagon (1975); y en perros, por Bogdanski y col. (1957).

Nuestros resultados nos indican que la zona de menor concentración en serotonina, de las estudiadas, los núcleos del cerebelo. A esta conclusión llegan los trabajos de Miller y col. (1970), Cox y Perhach (1973) y Palkovits y col. (1974), en ratas.

Pese a las numerosas analogías que hemos encontrado en las investigaciones realizadas para otras especies de animales, también tenemos que señalar algunas diferencias que completan nuestro análisis comparativo. Así, en la zona del hipocampo, que en nuestras investigaciones contiene una cantidad elevada de serotonina, en otras especies tiene una concentración mucho menor. Lo demuestran los trabajos, en ra-

CONTRERAS: DISTRIBUCION DE LA SEROTONINA EN SISTEMA NERVIOSO DEL TORO.
tas d

tas de Saavedra y col. (1974) y Butterworth y col. (1975); en gatos, de Pasquier y Balfagon (1975); y en perros, de Bogdanski y col. (1957). Caso similar ocurre con la zona del *tectum*. En nuestras investigaciones encontramos concentraciones de serotonina elevadas; y en los datos expresados en los trabajos de Holman y col. (1976), en ratas, se señalan concentraciones mucho menores.

Pensamos que la diferencia encontrada entre las mismas regiones de las dos razas: de lidia y frisona, sea debida a sus distintas características comportamentales.

Resumen.

Se ha estudiado la distribución regional de serotonina en el sistema nervioso central de la especie bovina en las razas de lidia y frisona.

Se utilizó una muestra de diez animales de cada raza y se efectuó la determinación por el método espectrofluorométrico, en veintidós zonas encefálicas.

La distribución regional de serotonina en el sistema nervioso central de bovinos no es homogénea, siendo similar a la de otras especies de mamíferos.

La mayor concentración de serotonina la posee la zona del cuerpo mamilar, con 1,0079 $\mu\text{g/g}$ de tejido fresco.

Las zonas de menor concentración en serotonina son los núcleos del cerebelo.

La raza de lidia posee mayor concentración de serotonina que la raza frisona, en todas las regiones estudiadas, excepto la zona del *tectum* y del epítalamo.

Summary.

It has been studied the regional distribution of serotonin in the central nervous system of the bovine species: in the lidia and Frisian races.

Using specimens from ten animals of each race, and using the spectrofluorometric method in twenty two encefalic zones, we have arrived at the following conclusion:

The regional distribution of serotonin in the central nervous system is not homogeneous, being similar to the other species of mammiferous.

The zone of the mamilar body possesses the largest concentration of serotonin with 1,0079 $\mu\text{g/g}$ of fresh tissue.

The nuclei of the cerebellum are the zones that have the least concentration of serotonin.

The lidia race has a larger concentration of serotonin than the Frisian race in all the regions studied, except for the *tectum* and epithalamic zone.

CONTRERAS: DISTRIBUCION DE LA SEROTONINA EN SISTEMA NERVIOSO DEL TORO.

CUADRO I Valor medio de la concentración de serotonina, expresado en microgramos/gramo de tejido fresco ($\mu\text{g/g}$) en diferentes zonas encefálicas de la raza frisona y en la de lidia. (ic.: intervalo de confianza)

REGIONES	\bar{X}	ic del 95 p. 100
Po.	0,5895	\pm 0,0152
CLP.	0,5264	\pm 0,0666
MO.	0,5642	\pm 0,0476
NA.	0,8499	\pm 0,0530
CM.	1,0079	\pm 0,0770
PC.	0,6351	\pm 0,0629
ET.	0,9435	\pm 0,0531
CG.	0,4836	\pm 0,0349
S.	0,7273	\pm 0,0533
NCc.	0,9100	\pm 0,1654
NC.	0,6130	\pm 0,0900
GC.	0,6880	\pm 0,0337
Tc.	0,9258	\pm 0,0725
Tg.	0,8887	\pm 0,0478
HP.	0,8356	\pm 0,0669
Hp.	0,8659	\pm 0,0860
TP.	0,6214	\pm 0,0559
TL.	0,7097	\pm 0,1341
TC.	0,7502	\pm 0,0969
EP.	0,7875	\pm 0,0204
NL.	0,6074	\pm 0,0516
Nc.	0,3960	\pm 0,0299

CONTRERAS: DISTRIBUCION DE LA SEROTONINA EN SISTEMA NERVIOSO DEL TORO.

CUADRO II. Valores de la concentración de serotonina expresados en microgramos/gramo de tejido fresco ($\mu\text{g/g}$), en diferentes zonas encefálicas de la raza de lidia y frisona (ic: intervalo de confianza).

REGIONES	RAZA DE LIDIA			RAZA FRISONA		
	Media	±	ic del 95 p. 100	Media	±	ic del 95 p. 100
Po.	0,7597	±	0,0660	0,4194	±	0,0474
CLP.	0,6576	±	0,0673	0,3952	±	0,0491
MO.	0,7333	±	0,0804	0,3311	±	0,0295
NA	0,9534	±	0,0402	0,7464	±	0,0535
CM.	1,1013	±	0,1503	0,9146	±	0,0490
PC.	0,7350	±	0,0997	0,5352	±	0,0470
ET.	0,9626	±	0,0998	0,9244	±	0,0794
CG.	0,5368	±	0,0402	0,4304	±	0,0490
S.	0,8225	±	0,0606	0,6322	±	0,0528
NCc.	1,1247	±	0,0728	0,8155	±	0,0323
NC.	0,8022	±	0,0796	0,4238	±	0,0297
GC.	0,7349	±	0,0526	0,6412	±	0,0371
Tc.	0,7854	±	0,0660	1,0662	±	0,0657
Tg.	0,9128	±	0,1010	0,8646	±	0,0516
HP.	0,9445	±	0,0925	0,7267	±	0,0667
Hp.	0,9762	±	0,1581	0,7557	±	0,0694
TP.	0,7334	±	0,0442	0,5095	±	0,0552
TL.	1,0049	±	0,0671	0,4155	±	0,0483
TC.	0,9615	±	0,0543	0,5389	±	0,0428
EP.	0,7637	±	0,0261	0,8114	±	0,0324
NL.	0,6339	±	0,1097	0,5810	±	0,0535
Nc.	0,4478	±	0,0444	0,3442	±	0,0168

Bibliografía.

- Amin, A., K. Penninge r y H. Gaddum, 1954.--The distribution of substance P. and 5-hydroxy-tryptamine in the central nervous system of the dog. *J. Physiol. (Lond)* 126: 596-618.
- Bjorklund, A., B. Falck y U. Stenevi, 1971.--Classification of monoamine neurones in the rat mesencephalon. Distribution of a new monoamine neurone system. *Brain Res.*, 32: 269-285.
- Bogdanski, D., H. Weissbach y S. Udenfriend, 1957.--The distribution of serotonin, 5-hydroxytryptopham decarboxylase, and monoamine oxidase in brain. *J. Neurochem.*, 1: 272.
- Broch, O. y C. Marsden, 1972.-- Regional distribution of monoamines in the corpus striatum of the rat. *Brain Res.*, 38: 425-428.
- Butterworth, R., F. Landreville, M. Quitard y A. Barbeau, 1975.--A reliable method for the simultaneous estimation of dopamine, noradrenaline and serotonin in discrete areas of brain, *Clin Biochem.* 8: 298-302.
- Cox, R. y J. Perhac, 1973.--A sensitive, rapid and simple method for the simultaneous spectrophotofluoremetric determination of norepinephrine, dopamine, 5-hydroxytryptamine and 5-hydroxyindolacetic acid in discrete areas of brain, *J. Neurochem.*, 20: 1777-1780.
- Ellison, G. 1975.--Behavior and balance between norepinephrine and serotonin. *Acta Neurob. Exp.* 35: 499-515.
- Fuxe, K., T. Hokfelt y U. Ungerstedt, 1969.--Distribution of monoamines in the mammalian central nervous system by histochemical studies. *Metabolism of amines in the brain*. Ed. Cooper, G. Mac Millan. London, pp. 10-22.
- Fuxe, K., T. Hokfelt y U. Ungerstedt, 1970.--Morphological and functional aspects of central monoamine neurons. *Int. Rev. Neurobiol.* 13: 93-126.
- Holman, R., P. Angwin y J. Barchas, 1976.--Simultaneous determination of indole and catecholamines in small brain regions in the rat using a weak cation exchange resin. *Neuroscience*, 1: 147-150.
- Levy, J. 1959.--Doit-on impliquer la serotine dans le procesus mentaux? *Acta Pharmacol.*, 12: 193-238.
- Miller, F., R. Cox, W. Snodgrass y R. Maickel, 1970.--Comparative effects of pchlorophenylalanine, pchloroamphetamine and pchloro-N-metyamphetamine on rat brain norepinephrine, serintonin and 5-hydroxyindole-3-acetic acid. *Biochem Pharmacol.* 19: 435.

CONTRERAS: DISTRIBUCION DE LA SEROTONINA EN SISTEMA NERVIOSO DEL TORO.

Moore, R., S. Wong y A. Heller, 1965.--Regional effects of hypothalamic lesions on brain serotonin. *Arch. Neurob.*, 13: 346.

Palkovits, M., M. Brownstein y J. Saavedra, 1974.--Serotonin content of the brain stem nuclei in the rat. *Brain Res.*, 80: 237-249.

Pasquier, D. y G. Balfagon, 1974.--Fluorimetría de la serotonina del tronco cerebral. Estudio de los niveles normales en el gato. *An. Anat.* 23: 247-254.

Pasquier, D. y G. Balfagon, 1975.--Regional distribution of 5-hydroxytryptamine in cat brain. *Rev. Esp. Fisiol.*, 31: 299-304.

Saavedra, J., M. Brownstein y M. Palkovits, 1974.--Serotonin distribution in the limbic system of the rat. *Brain Res.*, 79: 437-441.

Twarog, B. e I. Page, 1953.--Serotonin content of some mammalian tissues and urine and a method for its determination. *An. J. Physiol.*, 175: 157.

Udenfrien, S. 1962.--Fluorescence assay in biology and medicine. Academic Press. New York.

Yoshikama, T. 1967.--Atlas of the brain of domestic animals. Ed. Inv. Tokyo Press. Tokyo.